



IP SERVICES

Home IP Services PATENTSCOPE® Patent Search



Search result: 1 of 1

(WO/1994/014336) GRANULAR COLORANT AND FORMULA FEED CONTAINING THE SAME

Biblio. Data

Description

Claims

National Phase

Notices

Documents

Latest bibliographic data on file with the International Bureau

Pub. No.: WO/1994/014336 **International Application No.:** PCT/JP1993/001857
Publication Date: 07.07.1994 **International Filing Date:** 22.12.1993

IPC: A23K 1/16 (2006.01), A23L 1/275 (2006.01)

Applicants: KANEGAFUCHI KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA [JP/JP]; 2-4, Nakanoshima 3-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka-fu 530 (JP) *(All Except US)*.
 UEDA, Yasuyoshi [JP/JP]; (JP) *(US Only)*.
 SAWA, Ikuo [JP/JP]; (JP) *(US Only)*.
 KIZAKI, Noriyuki [JP/JP]; (JP) *(US Only)*.
 KOBAYASHI, Hiroki [JP/JP]; (JP) *(US Only)*.
 IMAMURA, Shiro [JP/JP]; (JP) *(US Only)*.

Inventors: UEDA, Yasuyoshi; (JP).
 SAWA, Ikuo; (JP).
 KIZAKI, Noriyuki; (JP).
 KOBAYASHI, Hiroki; (JP).
 IMAMURA, Shiro; (JP).

Agent: ITAMI, Kenji; 2-4, Nishitenma 3-chome, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530 (JP).

Priority Data: 4/359427 25.12.1992 JP

Title: GRANULAR COLORANT AND FORMULA FEED CONTAINING THE SAME

Abstract: A granular colorant produced by mixing an astaxanthin-containing extract from *Phaffia rhodozyma* yeast with a coating medium and granulating and drying the formed mixture. The colorant has a high astaxanthin content, can be homogeneously dispersed (or is freely flowable), does not cause dusting, and is excellent in stability.

Designated States: CA, JP, NO, US.
 European Patent Office (EPO) (DK, GB, NL, SE).

Publication Language: Japanese (JA)

Filing Language: Japanese (JA)

特許協力条約に基づいて公開された国際出願



| | | |
|---|-----------|---|
| <p>(51) 国際特許分類 5 A23K 1/16</p> | <p>A1</p> | <p>(11) 国際公開番号 WO 94/14336</p> <p>(43) 国際公開日 1994年7月7日(07.07.94)</p> |
| <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01857</p> <p>(22) 国際出願日 1993年12月22日(22. 12. 93)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平4/359427 1992年12月25日(25. 12. 92) JP</p> <p>(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 鐘淵化学工業株式会社 (KANEGAFUCHI KAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP] 〒530 大阪府大阪市北区中之島三丁目2番4号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者;および</p> <p>(75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 上田恭義(UEDA, Yasuyoshi)[JP/JP] 〒671-12 兵庫県姫路市網干区和久140-15 Hyogo, (JP) 沢 郁男(SAWA, Ikuo)[JP/JP] 〒676 兵庫県高砂市高砂町浜田町1丁目3-23 Hyogo, (JP) 木崎憲之(KIZAKI, Noriyuki)[JP/JP] 〒673 兵庫県明石市西明石北町3-3-26-101 Hyogo, (JP) 小林洋樹(KOBAYASHI, Hiroki)[JP/JP] 〒655 兵庫県神戸市垂水区塩屋町6-31-17 Hyogo, (JP) 今村史朗(IMAMURA, Shiro)[JP/JP] 〒675 兵庫県加古川市加古川町平野79-3-501 Hyogo, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 伊丹健次(ITAMI, Kenji) 〒530 大阪府大阪市北区西天満3丁目2番4号 Osaka, (JP)</p> | | <p>(81) 指定国 CA, JP, NO, US, 欧州特許(DK, GB, NL, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> |
| <p>(54) Title : GRANULAR COLORANT AND FORMULA FEED CONTAINING THE SAME</p> <p>(54) 発明の名称 着色用粉粒体及びこれを使用した配合飼料</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A granular colorant produced by mixing an astaxanthin-containing extract from <i>Phaffia rhodozyma</i> yeast with a coating medium and granulating and drying the formed mixture. The colorant has a high astaxanthin content, can be homogeneously dispersed (or is freely flowable), does not cause dusting, and is excellent in stability.</p> | | |

ファフィア・ロドチーマ酵母のアスタキサンチン含有抽出油と被覆媒体とを混合し、該混合物を造粒・乾燥してなる着色用粉粒体である。アスタキサンチン含量が高く、均一分散性（自由流動性）で粉塵発生がなく、安定性に優れている。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

| | | | | | | | |
|----|-----------|----|-------------|----|-----------|----|------------|
| AT | オーストリア | DE | ドイツ | KR | 大韓民国 | PL | ポーランド |
| AU | オーストラリア | DK | デンマーク | KZ | カザフスタン | PT | ポルトガル |
| BB | バルバドス | ES | スペイン | LI | リヒテンシュタイン | RO | ルーマニア |
| BE | ベルギー | FI | フィンランド | LK | スリランカ | RU | ロシア連邦 |
| BF | ブルキナ・ファソ | FR | フランス | LU | ルクセンブルグ | SD | スーダン |
| BG | ブルガリア | GA | ガボン | LV | ラトヴィア | SE | スウェーデン |
| BJ | ベナン | GB | イギリス | MC | モナコ | SI | スロヴェニア |
| BR | ブラジル | GE | ジョージア | MD | モルドバ | SK | スロヴァキア共和国 |
| BY | ベラルーシ | GN | ギニア | MG | マダガスカル | SN | セネガル |
| CA | カナダ | GR | ギリシャ | ML | マリ | TD | チャード |
| CF | 中央アフリカ共和国 | HU | ハンガリー | MN | モンゴル | TG | トーゴ |
| CG | コンゴ | IE | アイルランド | MR | モーリタニア | TJ | タジキスタン |
| CH | スイス | IT | イタリア | MW | マラウイ | TT | トリニダード・トバゴ |
| CI | コート・ジボアール | JP | 日本 | NE | ニジェール | UA | ウクライナ |
| CM | カメルーン | KE | ケニア | NL | オランダ | US | 米国 |
| CN | 中国 | KG | キルギスタン | NO | ノルウェー | UZ | ウズベキスタン共和国 |
| CS | チェコスロヴァキア | KP | 朝鮮民主主義人民共和国 | NZ | ニュージーランド | VN | ヴェトナム |
| CZ | チェコ共和国 | | | | | | |

明 細 書

着色用粉粒体及びこれを使用した配合飼料

技術分野

本発明は、ファフィア・ロドチーマ酵母のアスタキサンチン抽出油を含んでなる粉粒体に関するものである。本発明の粉粒体は、サケ、マス、マダイ、金魚、クルマエビ等の肉色や皮膚色、赤色カナリアの羽毛等の着色や栄養価の強化に有用である。

背景技術

アスタキサンチン等のカロチノイドやビタミンを色調改善剤や栄養補給剤として飼料に添加して使用する場合、飼料に均一に混合分散させることが重要であることは周知である。液状やロウ状のものは均一分散性の点で欠点があるため、粉粒体の形態が好ましく利用される。

動植物をアスタキサンチン色素源として魚類の色調改善剤に利用する形態の例としては、オキアミ等甲殻類のミール状乾燥製品か抽出油、またファフィア・ロドチーマ酵母乾燥物か抽出油等が挙げられるが、多く利用されている形態はミール状乾燥製品や酵母乾燥物であり、これらは粉粒体の形態である。

また、実質的に純粋な状態で化学合成したアスタキサンチン等のカロチノイドを色調改善剤に利用する場合も、粉粒体の形態に加工されている。

しかし、粉粒体であれば良いというのではなく、取扱量や輸送量等の観点からは十分なアスタキサンチン含量を有すること、更に、均一分散性を高めるために自由流動性があり、ハンドリング時に粉塵発生のない

い粉体特性を有することも重要な条件である。また、流動性が悪いと飼料ペレット化時に従来から一般に用いられている添加用設備ではうまく添加できない場合もでてくる。これらアスタキサンチン含量や粉体特性は、飼料製造業者が強く要望するところである。

上記のミール状乾燥製品や酵母乾燥物は、粉粒体ではあるものの、細胞を構成する蛋白質等が多量に存在する為、アスタキサンチン含量は充分ではなく、また、流動性が悪く、微粉末であるので、粉体特性も決して好ましいとはいえないものである。

このように、アスタキサンチンを含有する動植物やそれらの加工品を色調改善や栄養補給を目的として飼料に添加する場合、アスタキサンチン含量の低さや粉体特性の悪さといった難点がある。

また、アスタキサンチンをはじめとするカロチノイドはその種類にかかわらず、ほとんど純粋な状態においてすら熱や酸素に極めて敏感であり、安定性が低い。動植物細胞中に存在する場合においては、更に著しく不安定である場合がある。この不安定性のために、種々のカロチノイドあるいはカロチノイドを含有する組成物を、保存時の分解や飼料ペレット化時の温度、水分及び圧力条件下での分解から保護することが難しい。

上記のミール状乾燥製品や酵母乾燥物も非常に不安定で、アスタキサンチンが分解しやすい。アスタキサンチンを含有する動植物やそれらの加工品を色調改善や栄養補給を目的として飼料ペレット化する場合、この不安定性が難点となる。飼料ペレット化する場合、特に100℃以上の高温下でも十分な安定性を有することが望まれる。アスタキサンチンをはじめとするカロチノイドを安定化する方法としては、ブチルヒドロキシアニソール、ブチルヒドロキシトルエン、トコフェロールやエトキシキン等の酸化防止剤を濃度的に許容される範囲内で添加することが周

知であるが、酸化防止剤の添加だけでは十分に安定化することが難しいために、種々の安定化方法が提案されている。

米国特許第2756177号は、ビタミンー活性物質、水、ゼラチン及び／又はアラビアゴム、並びに糖を含有する乳濁液を噴霧・乾燥した自由流動性粉末の製造方法を開示しているが、この方法に従って製造される粉末は水溶性であることからペレット化時の安定性に乏しい。このため、特開昭63-258807は、還元糖のカルボニル基とゼラチン分子の遊離アミノ部分を熱的に交差結合させて不溶解性のビーズとすることにより、飼料ペレット化時の安定性を高める方法を開示している。

また、特開昭49-48874は、色安定性カロチンー又はカロチノイドー含有植物生産物を含んでなる着色用調製物を開示しているが、この形態でも十分な安定性を維持することが難しい。また、この形態は、植物細胞成分をほとんど含有する上に皮膜形成性コロイド成分をも含むため、非常にカロチノイド含量を低下させる形態でもある。このように、保存時の分解だけでなく、ペレット化時の温度、水分及び圧力といった苛酷条件下での分解をも抑制することは非常に難しい技術課題である。

このように、アスタキサンチン含量、粉体特性、安定性といった観点から、純粋な状態で化学合成したアスタキサンチン（SS：RR：メソ＝1：1：2の混合物）を含有する粉粒体（カロフィルピンク、被覆媒体としてゼラチン等を用いたCAROPHYLL Pink 5%或いはCAROPHYLL Pink 8%、エフ・ホフマン・ラ・ロッシュ社製 商品名）がアスタキサンチン含有色調改善剤として多く利用されており、動植物はアスタキサンチン色素源として広く利用されるには至っていない。

本発明が解決しようとする課題は、アスタキサンチンを含有する動植

物やそれらの加工品を色調改善や栄養補給を目的として飼料に添加する場合において、十分なアスタキサンチン含量を有し且つ十分な安定性を有する、均一分散性（自由流動性）で且つ粉塵発生のない粉粒体を開発することにある。

本発明者らは、アスタキサンチンを含有するファフィア・ロドチーマ酵母を利用して、色調改善剤、栄養補給剤として使いやすく且つ安定性の優れた粉粒体を得る目的で鋭意研究を重ねた結果、ファフィア・ロドチーマ酵母から得たアスタキサンチン含有抽出油を被覆媒体と混合せしめ、得られた混合物を造粒・乾燥することにより、目的とする粉粒体が得られることを見出した。

発明の開示

即ち、本発明の第1は、ファフィア・ロドチーマ酵母のアスタキサンチン含有抽出油と被覆媒体とを混合し、該混合物を造粒・乾燥してなる着色用粉粒体を、

本発明の第2は、上記着色用粉粒体を使用してなる配合飼料をそれぞれ内容とする。

発明を実施するための最良の形態

本発明に使用し得るファフィア・ロドチーマ (*Phaffia rhodozyma*) 酵母からのアスタキサンチン含有抽出油は、例えば、エリック、A、ジョンソンら：アプライド・アンド・エンバイアロンメンタル・マイクロバイオロジー誌、35巻、1155～1159頁（1978年）、ジャーナル・オブ・バイオケミストリー誌、1巻、273～282頁（1979年）に記載されているように、培養物を酸処理、機械的処理することにより細胞壁を分解・破碎した後、溶剤で内容物を抽出し濃縮する方法

で取得できる。内容物を抽出し得る溶剤としては、アセトン、エタノール、酢酸エチル、メチルイソブチルケトン、ヘキサノーエタノール、ヘキサノーアセトン、ヘキサノーイソプロパノール、アセトンー食用油、エタノールー食用油、食用油（魚油や植物油など）等を挙げることができる。もちろん、食用油中に懸濁した酵母を破碎してアスタキサンチンを溶出させたものも利用できる。

この様にして得られる抽出油は主として脂質成分で構成されているが、溶剤中で脂質を晶析除去する方法、脂質を分子蒸留する方法、脂質をリパーゼで分解後、分子蒸留する等の方法、吸着剤を用いる方法等の一般的な色素濃縮操作を加えることにより、脂質成分等の一部を除去してアスタキサンチン含量を高めた抽出油も利用できる。また、動植物油で希釈した抽出油であってもよい。

本発明の実施において混合時に使用できる被覆媒体としては、食品や飼料に許容される保護コロイドが挙げられる。その例としては、高、中又は低ゲル化能のゼラチン、分解ゼラチン、アミノ基保護ゼラチン、コラーゲン、アラビアゴムが好ましく用いられる。その他の例としては、澱粉、デキストリン、ペクチン、プルラン、カゼイン、カゼイン化合物、ミルク、糖等である。また、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、グリセリン脂肪酸エステル、高級アルコール、高級脂肪酸、高級脂肪酸の糖エステル、硬化油、アルギン酸塩等も用いることができる。これらは単独又は2種以上の混合物であってもよい。更に必要に応じて、例えば、レシチン等のリン脂質、ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリソルベート、アルファトコフェリルポリエチレングリコールスクシネート等の乳化剤、ビタミンA類やビタミンE類等のビタミン、落花生油、大豆油等の食用

油、エトキシキン、ブチルヒドロキシアニソール、ビタミンC類等の安定化剤、プロピオン酸塩等の防かび剤、硫酸ナトリウム、塩化ナトリウム等の塩やアセトン、エタノール、塩化メチレン等の有機溶剤を含めた他の成分と共に混合することもできる。また、他の天然及び合成のカロチノイドやビタミン活性物質、或いはその誘導体を含ませることもできる。

ファフィア・ロドチーマ酵母抽出油を被覆媒体を用いて混合する場合、抽出油の被覆媒体に対する重量比は0.01～10、好ましくは0.1～5である。この割合が高すぎるとゲル化・固化が起こりにくくなり、流動性の良い粉粒体の形態を形成しにくい。また、この割合が低すぎると、アスタキサンチン含量が低くなって経済的ではなく、また、水溶性が高くなる場合もある。

ファフィア・ロドチーマ酵母抽出油と被覆媒体は、通常は適量の水と共に混合する。混合は、例えば、攪拌による方法や超音波や圧力の利用による方法等の公知の均質化方法で実施できる。

使用する水量は、粉粒体の調製（造粒）に適する物性（粘度、表面張力等）とするのに必要な量であり、これは、混合液の構成、組成、温度等の条件や装置の種類、操作条件によって異なる。使用する水は、混合に際し全量添加してもよいし、また、造粒直前にその一部を混合してもよい。水を必要としない場合もある。また、アスタキサンチンの安定化のために、一般的には混合液のpH値は5～10の範囲の適した値に調整される。

混合液は、通常は回転円盤型噴霧装置、ノズル式噴霧装置、ノズル式滴下装置等を使用する公知の方法で造粒できる。形成した液滴の捕集方法としては、乾燥によりゲル化・固化させる方法、冷却によりゲル化・固化させる方法、流動パラフィン等の冷却液中に捕集しゲル化・固化さ

せる方法、また、澱粉、軽質無水珪酸、タルク等の一般的な捕集粉末中に捕集することによりゲル化・固化させる方法といった公知の方法を使用できる。捕集した液滴粒子は、通常水分含量15重量%以下、好ましくは2～10重量%の範囲に、減圧もしくは常圧下に乾燥する。必要により、加熱処理を加えて粉粒体の機械的強度を変化させることもできる。また、混合液をゲル化・固化させた後に粉碎し乾燥する方法やゲル化・固化させた後に乾燥し粉碎する方法も選択できる。これら全ての方法に別途造粒操作を組み入れることも可能である。

得られた粒子は、乾燥前もしくは乾燥後に必要に応じて、捕集粉末、微粒子や大粒子から分離される。分離は、篩を通過させる方法とか気流を用いて分級するなどの公知の方法を使用することができる。当然のことながら、噴霧条件、粉碎条件や造粒条件を調節して、好ましい粒径範囲のものが得られるようにするのが有利である。

この様にして得られた本発明の着色用粉粒体は、ファフィア・ロドチーマ酵母のアスタキサンチン含有抽出油1重量部に対して被覆媒体0.01～10重量部の割合で混合されているが、この酵母抽出油は普通2重量%以上のアスタキサンチンを含むので、粉粒体はおよそ0.2重量%以上の、普通は1～2重量%のアスタキサンチンを含んでいる。尚、本発明の着色用粉粒体に含まれるアスタキサンチンは、ファフィア・ロドチーマ酵母が産生した、ほぼ純粋なRR体である。また、他のカロチノイド含有動植物抽出油を含んでなる粉粒体に較べて、均一分散性で粉塵発生のない粉体特性を有し、非常に安定性が高く、特に不溶化のための処理（例えば、特開昭63-225880の方法）を行わなくても、ペレット化時の苛酷な条件下での安定性に優れている。

尚、ペレット化時の苛酷な条件に耐えるためには一般に強固な粉粒体に加工され、それが体内吸収性に悪影響を及ぼす傾向があり、また、細

胞中にアスタキサンチンを含有する場合も体内吸収性が悪い傾向があるが、本発明で得られる粉粒体は、十分な体内吸収性を有している。

本発明の効果を最大に発揮するためには、粉粒体中にリン脂質を含有させることにより体内吸収性を高めるのが良い。従来から、各種配合飼料の吸収性向上の目的で、飼料ペレット化時にリン脂質を添加することが知られているが、本発明の粉粒体の使用に際しては、飼料中に別途リン脂質を添加しても効果は低く、粉粒体中にリン脂質を含有させておくことにより、吸収性が著しく改善される。本発明のアスタキサンチン含有抽出油を含んでなる粉粒体ではその効果が顕著である。特にアスタキサンチンが抽出油に充分溶解して、あまり結晶として析出していない状態のもの、或いは、析出していてもミクロな結晶状態であるもの、うまく乳化している状態のものが好ましく用いられる。

リン脂質としては、天然のもの、天然から抽出したもの、または抽出後精製したもの、或いは合成したものの如何を問わず使用できる。また、市販のもの、或いは公知の方法で調製したものを使用してもよい。例えば、大豆レシチン、卵黄レシチン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジリンシトール、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、スフィンゴミエリン、リゾリン脂質、カルジオリピン等、または、これらの混合物等が挙げられるが、価格面から大豆レシチンや卵黄レシチンが好ましく使用できる。これらのリン脂質にコリン、イノシトール、ジエタノールアミン、ベタイン等を含ませることもできるし、澱粉、デキストリン等を含めた他成分と併用することもできる。リン脂質の添加量は特に制限はないが、微量から50重量%（対抽出油）程度まで、添加量に応じた吸収性の改良ができ、コストとの関連から最適 lượng を選ぶことができる。

本発明の着色用粉粒体は、配合飼料に添加して使用される。

例えば、一般に用いられている飼料の配合物、例えば、魚粉、肉骨粉、オキアミミール、大豆油粕、コーングルテンミール、トルラ酵母、小麦粉、澱粉、グアーガム、デキストリン、CMC、アルギン酸ソーダ、レシチンなどのリン脂質、ミネラル、ビタミンCやビタミンE等のビタミン類等と混合し、普通用いられる手段で、ペレットまたはマッシュ状に成形して配合飼料とすることができる。ファフィア・ロドチーマ酵母が産生するカロチノイドは、アスタキサンチン以外の他のカロチノイドも含んでいるために、より天然に近い色調を得ることができるとの報告

(例えば、特開平2-238855)もあり、本発明の粉粒体は、カロチノイドとしてアスタキサンチンのみを含むカロフィルピンクとは違った微妙な色調が期待できるが、別途、他の天然及び合成のアスタキサンチンや他のカロチノイド源と共に混合して、好みの色調に改善することもできる。ペレットとしては、通常のペレット(コールドペレット、ハードペレット)の他、EP(expanded pellet、膨脹ペレット)など特に制限なく利用できる。

飼料中への粉粒体の添加量は一般にアスタキサンチンとしておよそ10~150ppmで有効であり、色調改善等の目的に応じて適宜調整すればよい。例えば、養殖魚の出荷直前に急いで色調を改善する場合にはアスタキサンチン含有量の高い飼料を給餌し、また、徐々に色調を改善する場合にはアスタキサンチン含有量の低い飼料を給餌すれば良い。

以下、実施例、比較例、試験例により本発明を更に詳細に説明するが、もとより本発明はこれに限定されるものではない。

尚、以下の記載において、「%」は特に断らない限り「重量%」を意味する。

実施例1

ファフィア・ロドチーマ酵母培養液から酵母を遠心分離した後、0.

5 Nの硫酸中で100℃下、4時間攪拌し、室温まで冷却した。次いで、水酸化ナトリウム水溶液で中和した後、酵母を遠心分離し、充分量の水で洗浄した。この酵母を培養液と同容量のアセトンとともに室温下、30分間攪拌し、酵母内容物を抽出した。抽出後の酵母を濾過して除いた後、溶剤を減圧下留去して、ファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量3.2重量%）を得た。

60℃に加温した蒸留水56gに210ブルームのゼラチン21gを添加し溶解させた。このゼラチン溶液を攪拌しながら、水酸化ナトリウム水溶液を加えてpH値8.5に調整した。次にファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量3.2重量%）16gを加えた後、60℃下、混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。室温で減圧乾燥した後、篩にかけて澱粉と粉末化粒子に分けた。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は7重量%、アスタキサンチン含量は1.1重量%であった。

実施例2

70℃に加温した蒸留水36gにアラビアゴム21gを添加し溶解させた。この溶液に実施例1で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量3.2重量%）10gを加えた後、70℃下、混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。澱粉と粉末化粒子を篩にかけた後、室温で減圧乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は5重量%、アスタキサンチン含量0.7重量%であった。

実施例3

菜種硬化油12g、ステアリン酸モノグリセライド8gを溶解した混合物に、実施例1で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキ

サンチン含量 3.2 重量%) 3 g を添加後、約 80℃ 下、混合し均質化した。この混合液を回転円盤型噴霧装置を用いて、20℃ 以下の室温に噴霧した。

得られた粉粒体の粒径は 150～840 ミクロン、アスタキサンチン含量は 0.4 重量% であった。

実施例 4

60℃ に加温した蒸留水 56 g に 110 ブルームのゼラチン 21 g を添加し溶解させた。次に実施例 1 と同様の方法で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油 (アスタキサンチン含量 4.3 重量%) 20 g を加えた後、60℃ 下、混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて、軽質無水珪酸層中に噴霧した。軽質無水珪酸と粉末化粒子を分離後、室温で減圧乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は 150～840 ミクロン、水分含量は 4 重量%、アスタキサンチン含量は 1.9 重量% であった。

実施例 5

60℃ に加温した蒸留水 56 g に 315 ブルームのゼラチン 23 g を添加し溶解させた。このゼラチン溶液に実施例 1 で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油 (アスタキサンチン含量 3.2 重量%) 8 g を加えた後、60℃ 下、混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて 20℃ 以下の室温に噴霧した。その後、室温で減圧乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は 150～840 ミクロン、水分含量は 4 重量%、アスタキサンチン含量は 0.8 重量% であった。

実施例 6

70℃ に加温した蒸留水 56 g に 210 ブルームのゼラチン 21 g を添加し溶解させた。このゼラチン溶液を攪拌しながら、水酸化ナトリウ

ム水溶液を加えてpH値8.5に調整した。次に実施例1で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量3.2重量%）16gを加えた後、70℃下、混合した。更に砂糖5gを蒸留水5gに加えた液を添加した後、70℃下、混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。室温で減圧乾燥した後、篩にかけて澱粉と粉末化粒子に分けた。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は4重量%、アスタキサンチン含量は1.0重量%であった。

実施例7

ファフィア・ロドチーマ酵母培養液から酵母を遠心分離した後、0.5Nの硫酸中で100℃下、4時間攪拌し、室温まで冷却した。次いで、水酸化ナトリウム水溶液で中和した後、酵母を遠心分離し、充分量の水で洗浄した。この酵母を培養液と同容量の酢酸エチルとともに室温下、30分間攪拌し、酵母内容物を抽出した。抽出後の酵母を濾過して除いた後、溶剤を減圧下留去して、ファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量2.7重量%）を得た。

60℃に加温した蒸留水56gに210ブルームのゼラチン21gを添加し溶解させた。このゼラチン溶液を攪拌しながら、水酸化ナトリウム水溶液を加えてpH値を8.0に調整した。次にファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量2.7重量%）18gを加えた後、60℃下、混合し均質化した。得られた乳濁液のpH値は7.1であった。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。室温で減圧乾燥した後、篩にかけて澱粉と粉末化粒子に分けた。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は6重量%、アスタキサンチン含量は1.0重量%であった。

実施例8

60℃に加温した蒸留水5.6kgに210ブルームのゼラチン2.1kgを添加し溶解させた。このゼラチン溶液を攪拌しながら、水酸化ナトリウム水溶液を加えてpH値8.5に調整した。次に実施例1と同様の方法で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量2.4重量%）1.8kgを加えた後、60℃下、混合し均質化した。この乳濁液をノズル型噴霧装置を用いて、澱粉層中に噴霧した。澱粉と粉末化粒子を篩かけた後、まず室温で気流乾燥し、次いで50℃で気流乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は74～840ミクロン、水分含量は5重量%、アスタキサンチン含量は0.9重量%であった。

実施例9

60℃に加温した蒸留水56gに210ブルームのゼラチン21gを添加し溶解させた。この溶液に実施例1で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量3.2重量%）16gを加えた後、60℃下、分散混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて、澱粉層中に噴霧した。室温で減圧乾燥した後、篩にかけて澱粉と粉末化粒子に分けた。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は7重量%、アスタキサンチン含量は1.1重量%であった。

実施例10

60℃に加温した蒸留水6.6kgに315ブルームのゼラチン2.1kgを添加し溶解させた。このゼラチン溶液を攪拌しながら、ビタミンC82gを添加し、水酸化ナトリウム水溶液を加えてpH値8.5に調整した。次に実施例1と同様の方法で得たファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン含量1.5重量%）1.8kgを約80℃で減圧下加温した後、60℃の上記ゼラチン溶液にゆっくり添加した。

また、エトキシキン 1.4 g も添加した。この添加中及び添加後 1 時間、溶液を激しく攪拌しつつ乳化機で乳化し、乳濁液を得た。この乳濁液をノズル型噴霧装置を用いて、澱粉層中に噴霧した。澱粉と粉末化粒子を篩にかけた後、減圧乾燥し、粉粒体を得た。

実施例 11

ファフィア・ロドチーマ酵母抽出油（アスタキサンチン 1.5 重量％）1.8 kg の添加時に、大豆レシチン 47 g を添加した以外は、実施例 10 と同様の操作を行い、粉粒体を得た。

比較例 1

ファフィア・ロドチーマ酵母培養液から酵母を遠心分離した後、充分量の水で洗浄した。この酵母を含む懸濁水を回転円盤型噴霧装置を用いて噴霧乾燥した。得られた粉粒体の粒径は 10～20 ミクロン、水分含量は 5 重量％、アスタキサンチン含量は 0.23 重量％であった。

比較例 2

ファフィア・ロドチーマ酵母培養液から酵母を遠心分離した後、0.5 N の硫酸中で 100℃ 下、4 時間攪拌し、室温まで冷却した。次いで水酸化ナトリウム水溶液で中和した後、酵母を遠心分離し、充分量の水で洗浄した。この酵母を含む懸濁水を回転円盤型噴霧装置を用いて噴霧乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は 10～20 ミクロン、水分含量は 6 重量％、アスタキサンチン含量は 0.30 重量％であった。

比較例 3

比較例 1 で得た乾燥酵母 15 g を、210 ブルームのゼラチン 10 g、蒸留水 20 g と共に 60℃ 下に攪拌した。これを回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。澱粉と粉末化粒子を篩にかけた後、室温で減圧乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は5重量%、アスタキサンチン含量は0.13重量%であった。

比較例4

比較例2で得た乾燥酵母15gを、210ブルームのゼラチン10g、蒸留水20gと共に60℃下に攪拌した。これを回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。澱粉と粉末化粒子を篩にかけた後、室温で減圧乾燥した。

得られた粉粒体の粒径は150～840ミクロン、水分含量は9重量%、アスタキサンチン含量は0.15重量%であった。

比較例5、6、7

60℃に加温した蒸留水56gに210ブルームのゼラチン21gを添加し溶解させた。次に、表1に示すカロチノイド色素抽出油16gを加えた後、60℃下、分散混合し均質化した。この乳濁液を回転円盤型噴霧装置を用いて澱粉層中に噴霧した。室温で減圧乾燥した後、篩にかけて澱粉と粉末化粒子に分けた。

得られた粉粒体は、表2の通りであった。

【表 1】

(使用したカロチノイド色素抽出油)

| | 商品名 | カロチノイド |
|-------|---------------------------------|-----------------|
| 比較例 5 | カニ色素 リケカラーカニ 40 (理研ビタミン株式会社) | アスタキサンチン |
| 比較例 6 | 油性 アナトー BS-3 (三栄化学工業株式会社) | ビキシン、 ノルビキシン |
| 比較例 7 | パプリカ色素 100% (株式会社アイゼン) | カプサンチン |

【表 2】

(得られた粉粒体の結果)

| | 粒径範囲 (ミクロン) | 水分 (重量%) | カロチノイド含量 (重量%) |
|-------|----------------|-------------|-------------------|
| 比較例 5 | 150 ~ 840 | 6 | 0.5 |
| 比較例 6 | 150 ~ 840 | 8 | 1.7 |
| 比較例 7 | 150 ~ 840 | 7 | 2.8 |

試験例 1

上記実施例 1 ~ 8 及び比較例 1 ~ 4 で得た粉粒体、並びにカロフィル

ピンク (CAROPHYLL Pink 8%、エフ・ホフマン・ラ・ロッシュ社製 商品名) の流動性 (安息角、圧縮度) を評価した。その結果を表3に示した。表3の結果から明らかなように、本発明品は良好な流動性を有している。

【表3】

| | 安息角 (度) | 圧縮度 (%) |
|--------------|---------|---------|
| 実施例1で取得した粉粒体 | 35 | 13 |
| 実施例2で取得した粉粒体 | 35 | 13 |
| 実施例3で取得した粉粒体 | 40 | 18 |
| 実施例4で取得した粉粒体 | 35 | 17 |
| 実施例5で取得した粉粒体 | 45 | 18 |
| 実施例6で取得した粉粒体 | 35 | 15 |
| 実施例7で取得した粉粒体 | 35 | 13 |
| 実施例8で取得した粉粒体 | 40 | 16 |
| 比較例1で取得した粉粒体 | 測定不能 | 44 |
| 比較例2で取得した粉粒体 | 測定不能 | 50 |
| 比較例3で取得した粉粒体 | 35 | 14 |
| 比較例4で取得した粉粒体 | 35 | 17 |
| カロフィルピンク | 35 | 13 |

圧縮度: $100 \times (\text{固めのかさ密度} - \text{緩めのかさ密度}) / \text{固めのかさ密度}$

試験例2

実施例1、6で得た抽出油と実施例1～8で得た粉粒体、比較例1～4で得た粉粒体、並びにカロフィルピンク (CAROPHYLL Pi

n k 8%、エフ・ホフマン・ラ・ロッシュ社製 商品名)の安定性
(アスタキサンチン残存率)を評価した。その結果を表4に示した。表
4の結果から明らかなように、本発明品は高い安定性を有している。

【表4】

| | アスタキサンチン残存率 (%) |
|--------------|-----------------|
| 実施例1で取得した粉粒体 | 88 |
| 実施例2で取得した粉粒体 | 72 |
| 実施例4で取得した粉粒体 | 84 |
| 実施例5で取得した粉粒体 | 85 |
| 実施例6で取得した粉粒体 | 83 |
| 実施例7で取得した粉粒体 | 81 |
| 実施例8で取得した粉粒体 | 84 |
| 比較例1で取得した粉粒体 | 33 |
| 比較例2で取得した粉粒体 | 13 |
| 比較例3で取得した粉粒体 | 45 |
| 比較例4で取得した粉粒体 | 27 |
| 実施例1で取得した抽出油 | 34 |
| 実施例6で取得した抽出油 | 31 |
| カロフィルピンク | 76 |

アスタキサンチン残存率：遮光下、115℃で2時間保存後のアスタキサンチン
残存率

試験例3

実施例1、9及び比較例5、6、7で得た粉粒体、並びにカロフィル

ピンク (CAROPHYLL Pink 8%、エフ・ホフマン・ラ・ロッシュ社製 商品名) の安定性 (カロチノイド残存率) を評価した。その結果を表5に示した。表5の結果から明らかなように、ファフィア・ロドチーマ酵母抽出油を含んでなる粉粒体は、他のカロチノイド色素抽出油を含んでなる粉粒体に較べて高い安定性を有している。

【表5】

| | カロチノイド残存率 (%) |
|--------------|---------------|
| 実施例1で取得した粉粒体 | 80 |
| 実施例9で取得した粉粒体 | 79 |
| 比較例5で取得した粉粒体 | 30 |
| 比較例6で取得した粉粒体 | 32 |
| 比較例7で取得した粉粒体 | 46 |
| カロフィルピンク | 55 |

カロチノイド残存率：遮光下、150℃で2時間保存後のカロチノイド残存率

試験例4

餌料 (フィッシュミール約65%、フィッシュオイル約10%、小麦粉約23%、大豆レシチン約1%、ミネラルその他約2%) 75kgに対して、実施例1と同様にして得た粉粒体 (A)、実施例6と同様にして得た粉粒体 (B)、又はカロフィルピンク (CAROPHYLL Pink 8%、エフ・ホフマン・ラ・ロッシュ社製 商品名) (C) のカロチノイド含量が50ppmとなるように添加混合した。カロフィルピンク添加の場合は、ゼラチンと澱粉を栄養学的に追加して本発明品と同等

になるよう調整した。

これらを押し出し式のペレット製造機を用いて、以下の条件で飼料ペレット化した。

飼料供給速度：120 kg/hr

水分供給速度：約0.2 kg/min (混合シリンダー)

約0.04 kg/min (押し出し機)

蒸気供給速度：約9.0 kg/hr (混合シリンダー)

約4.0 kg/hr (押し出し機)

温度：71℃ (混合シリンダー)

85℃ (押し出し機入口)

140℃ (押し出し機中央部)

61℃ (押し出し機出口)

圧力：110 psi (押し出し機出口)

得られた飼料ペレットを冷却した後、カロチノイド残存率を評価した。その結果を表6に示した。表6の結果から明らかなように、本発明品は良好な安定性を有している。

【表6】

| 飼料ペレット | カロチノイド残存率 (%) |
|--------|---------------|
| A | 88 |
| B | 92 |
| C | 88 |

試験例5

試験例4で得られた飼料ペレットをオイルコーティングした後、遮光

下、20℃で28日間保存し、カロチノイド残存率を評価した。その結果を表7に示した。表7の結果から明らかなように、本発明品は良好な安定性を有している。

【表7】

| 飼料ペレット | カロチノイド残存率 (%) |
|--------|---------------|
| A | 100 |
| B | 100 |
| C | 100 |

試験例6

餌料〔フィッシュミール約65%、フィッシュオイル（ビタミンC10%、エトキシキン100ppm含有）約10%、小麦粉約23%、大豆レシチン約1%、ミネラル（酸化イッテルビウム2%含有）約0.5%〕75kgに対して、カロフィルピンク（CAROPHYLL Pink 8%、エフ・ホフマン・ラ・ロッシュ社製 商品名）（A）、実施例10で得た粉粒体（B）、又は実施例11で得た粉粒体（C）をアスタキサンチン含量が約50ppmとなるように添加混合した。（A）には、ゼラチンと澱粉を追加して栄養学的に（B）、（C）と同等となるように調整した。

これらの各餌料を良く混合し、押し出し式のペレット製造機を用いて、以下の条件で飼料ペレット化した。

餌料供給速度：120kg/hr

水分供給速度：約0.2kg/min（混合シリンダー）

約0.04kg/min（押し出し機）

蒸気供給速度：約 9.0 kg/hr (混合シリンダー)

約 4.0 kg/hr (押し出し機)

温度：71℃ (混合シリンダー)

83℃ (押し出し機入口)

140℃ (押し出し機中央部)

61℃ (押し出し機出口)

圧力：110 psi (押し出し機出口)

得られた押し出し膨化処理後の飼料ペレットを気流で乾燥冷却した後、各飼料ペレット 50 kg に対して、フィッシュオイル (ビタミン C 10 %、エトキシキン 100 ppm 含有) を約 3 kg の割合で、室温下で混合して、フィッシュオイルで被覆した飼料ペレットを得た。

最終的に得られた、フィッシュオイルで被覆したアスタキサンチン含有飼料ペレット中のアスタキサンチン含量は、それぞれ (A) 32 ppm、(B) 40 ppm、(C) 40 ppm であった。また、ペレット化時のアスタキサンチン分解率、飼料ペレットの遮光下 20℃ 保存でのアスタキサンチン残存率には差はなかった。

これらの飼料ペレットを、大西洋サケに以下の条件で給餌し、アスタキサンチンの体内吸収性を評価した。

試験機関：アクワフォルスク イン스티テュート・オブ・アクアカルチャー・リサーチ・リミテッド (AKVAFORSK Institute of Aquaculture Research Ltd)、ノルウェー

供試魚：大西洋サケ 平均体重約 750 g で体重の揃ったもの

試験区：各飼料ペレットに対して、生け簀数 3 (計 150 尾) 使用

飼育条件

生け簀：容量 27 m³ (50 尾)

飼育水：海水、温度なりゆき

給餌：3回／日、1日当たり魚体重の0.5%を投餌

飼育期間：2週間

体内吸収性評価法

飼育2週間後、全ての大西洋サケをMS-222 (Metkainsulfonate、メトカインスルホネート) で麻酔させた。腹部(後腸)を指圧し、糞を絞り出した。得られた糞を直ちに液体窒素で凍結させた後、凍結乾燥した。

飼料及び凍結乾燥した糞中のイッテルビウム含量を、発光分光法で測定した。飼料及び凍結乾燥した糞中のアスタキサンチン含量をHPLC法で測定した。次の計算式を用いて体内吸収性を算出した。

$$\text{体内吸収性} = 100 - (100 \times a \times b)$$

$$a = \text{飼料中のイッテルビウム含量 (ppm)} / \text{糞中のイッテルビウム含量 (ppm)}$$

$$b = \text{糞中のアスタキサンチン含量 (ppm)} / \text{飼料中のアスタキサンチン含量 (ppm)}$$

各飼料ペレットを用いた場合の体内吸収性の結果を表8に示した。表8の結果から明らかなように、粉粒体中にリン脂質を含有させることにより体内吸収性が著しく向上する。

【表 8】

| 飼料ペレット | アスタキサンチン吸収性 |
|--------|--------------|
| A | 23.9 ± 2.4 % |
| B | 8.5 ± 2.4 % |
| C | 30.2 ± 4.1 % |

産業上の利用可能性

本発明によれば、十分なアスタキサンチン含量を有し且つ十分な安定性を有する、均一分散性（自由流動性）で且つ粉塵発生のないファフィア・ロドチーマ酵母抽出油を含んでなる粉粒体を得ることが可能である。

請 求 の 範 囲

1. ファフィア・ロドチーマ酵母のアスタキサンチン含有抽出油と被覆媒体とを混合し、該混合物を造粒・乾燥してなる着色用粉粒体。
2. 被覆媒体がゼラチン、コラーゲン及びアラビアゴムよりなる群から選ばれる少なくとも1種を含んでなる請求項1記載の着色用粉粒体。
3. 該混合物を造粒する以前にリン脂質を混合する請求項1記載の着色用粉粒体。
4. リン脂質がレシチンである請求項3記載の着色用粉粒体。
5. 請求項1～4記載の着色用粉粒体を使用してなる配合飼料。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01857

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ A23K1/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ A23K1/16, A23K1/18

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X Y | JP, B2, 63-61907 (Sanraku Inc.), November 30, 1988 (30. 11. 88), (Family: none) Lines 5 to 14, column 4 | 1, 2, 5 3, 4 |
| X Y | JP, A, 5-76347 (Qest International BV.), March 30, 1993 (30. 03. 93), (Family: none) Lines 3 to 13, column 3 | 1, 5 2-4 |
| Y | JP, A, 4-158749 (Ajinomoto Takara Corp.), June 1, 1992 (01. 06. 92), (Family: none) | 1-5 |
| Y | JP, A, 4-53455 (Ajinomoto Takara Corp.), February 21, 1992 (21. 02. 92), (Family: none) | 1-5 |

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

February 1, 1994 (01. 02. 94)

Date of mailing of the international search report

February 22, 1994 (22. 02. 94)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

| | | |
|--|--|--|
| A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) | | |
| Int. Cl ⁵ A23K1/16 | | |
| B. 調査を行った分野 | | |
| 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) | | |
| Int. Cl ⁵ A23K1/16, A23K1/18 | | |
| 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの | | |
| 国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) | | |
| C. 関連すると認められる文献 | | |
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| X Y | JP, B2, 63-61907 (三楽株式会社), 30. 11月. 1988 (30. 11. 88) (ファミリーなし) 第4欄, 第5-14行 | 1, 2, 5 3, 4 |
| X Y | JP, A, 5-76347 (クエスト・インターナショナル・ビー・ ブイ), 30. 3月. 1993 (30. 03. 93) (ファミリーなし) 第6欄, 第3-13行 | 1, 5 2-4 |
| <input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。 | | |
| * 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献 | | |
| 国際調査を完了した日 | | 国際調査報告の発送日 |
| 01. 02. 94 | | 22. 02. 94 |
| 名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | | 特許庁審査官 (権限のある職員) 郡 山 順 ⑤ 電話番号 03-3581-1101 内線 3236 |

C (続き). 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| Y | JP, A, 4-158749 (株式会社 味の素タカラコーポレーション), 1. 6月. 1992 (01. 06. 92) (ファミリーなし) | 1-5 |
| Y | JP, A, 4-53455 (株式会社 味の素タカラコーポレーション), 21. 2月. 1992 (21. 02. 92) (ファミリーなし) | 1-5 |